

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 52-083940
(43)Date of publication of application : 13.07.1977

(51)Int.CI. A61K 31/195
A61K 31/405
A61K 31/415

(21)Application number : 51-000233 (71)Applicant : KAKEN PHARMACEUT CO LTD
(22)Date of filing : 01.01.1976 (72)Inventor : INOUE YUKIO
ZAMA KATSUYUKI
SUZUKI SOJI

(54) IMMUNO-INHIBITOR

(57)Abstract:

PURPOSE: D-Amino acids having high immuno-inhibiting effect against the diseases originated from antigen-antibody reaction, such as rejection by the implantation of organs, chronic arthrorheumatism, bulbospinal paralysis, etc., and nevertheless low toxic.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]
[Date of sending the examiner's decision of rejection]
[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]
[Date of final disposal for application]
[Patent number]
[Date of registration]
[Number of appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]
[Date of extinction of right]

⑨日本国特許庁
公開特許公報

⑩特許出願公開
昭52-83940

⑪Int. Cl ²	識別記号	⑫日本分類	序内整理番号	⑬公開 昭和52年(1977)7月13日
A 61 K 31/195	ABC	30 G 127.11	7043-44	
A 61 K 31/405	ABC	30 G 133.21	7043-44	発明の数 1
A 61 K 31/415	ABC	30 G 133.11	7043-44	審査請求 未請求
		30 H 211	5921-44	

(全 4 頁)

④免疫抑制剤

①特 願 昭51-233
②出 願 昭51(1976)1月1日
③發 明 者 井上行雄
東京都世田谷区宮坂1の19の20
同 座間克征

埼玉県北葛飾郡鶴宮町鶴宮団地
3の11の501
④發 明 者 鈴木宗司
岩槻市宮町1の9の18
⑤出 願 人 科研化学株式会社
東京都文京区本駒込2の28の8
⑥代 理 人 弁理士 小林正雄

明細書

発明の名称

免疫抑制剤

特許請求の範囲

・ α -アミノ酸のD-1異性体を有効成分として含有することを特徴とする免疫抑制剤。

発明の詳細な説明

本発明は α -アミノ酸のD-1異性体を有効成分とする新規な免疫抑制剤に関する。

抗原抗体反応に基づく疾患としては、たとえば下記のものが知られている。腎移植、皮膚移植等の臓器移植の際の拒絶反応、各種腎疾患、甲状腺疾患、慢性関節リューマチ、血小板減少症、全身性エリテマトーデス、重症筋無力症、各種呼吸器疾患、ルボイド肝炎症、胃その他の自己免疫疾患、潰瘍性大腸炎、血管炎、アトピー性皮膚炎、多発性筋炎、強皮症、脱髄性脳疾患等。

これらの疾患の治療に用いられる従来の免疫抑制剤はいずれも多くの欠点を有している。た

とえば(1)副腎ホルモン剤については腹内圧亢進、閉節の不安定化等、(2)アザチオブリンについては食欲不振、下痢などの胃腸障害、皮疹、脱毛、発熱、舌炎、心悸亢進、血液障害、大量投与による肝障害等、(3)シクロホスファミド(抗悪性腫瘍剤)については白血球減少、リンパ球減少、脱毛、食欲不振、一過性低血圧、腎障害、肝臓機能低下、黄疸、下痢、頭痛、不眠、出血傾向、血小板減少、貧血、口内炎、発熱、発疹等、(4)抗リンパ球血漿については突然、疼痛、再注射時のアナフラキシーショック等の副作用が知られている。

従来 α -アミノ酸の光学異性体であるD-1体は、微生物の代謝産物の一部の構成因子としてあるいは微生物細胞膜構成の構成成分として知られているが、高等動物に対するD- α -アミノ酸の利用法又は生理作用に関してはほとんど報告がない。

本発明者らは広く免疫抑制物質について検索を進めた結果、 α -アミノ酸のD-1異性体がきわめて高い免疫抑制効果を示し、しかも低毒性

であることを見出した。

本発明はこの知見に基づくもので、ローラミノ酸のD-アミノ酸のL-異性体を有効成分として含有することと特徴とする免疫抑制剤である。

本発明に用いるD-アミノ酸のL-異性体としては、たとえばアラニン、バリン、ロイシン、イソロイシン、セリン、スレオニン、アスパラギン酸、アスパラギン、グルタミン酸、グルタミン、メチオニン、チロシン、フェニルアラニン、ヒスチジン、トリプトファン、シスチン、システィン、アルギニン、プロリン、ヒドロオキシプロリン、リジン、グリシン、エチオニン等のD-アミノ酸が用いられる。

これらの化合物は既知の物質であつて、下記文献に記載の方法により又はこれに準ずる方法により得られる。アンナーレン・デル・ヘミー130巻217頁(1964年)、ツァイト・ユーリット・フュール・フイジオロギッシェ・ヘミー17巻513頁(1693年)及びジャーナル・オブ・バイオロジカル・ケミストリー19巻707頁(1937年)。なおこれらの

特開昭52-83940(2)

化合物は遊離型のほか、その塩、エステル、ラクタム、アミド、アシル化物等の単純な誘導体としても用いられ、2種以上併用することもできる。

本発明の免疫抑制剤は経口投与、静脈注射、筋肉注射、皮下注射。皮内注射あるいは血漿のいずれの方法によつても投与できるが、経口投与、静脈注射又は筋肉注射が好ましい。

本発明の免疫抑制剤の投与量は、対象とする疾患の種類、程度等によつても異なるが、たとえば経口投与では体重1kg当たり1日0.1~500mgで有効である。

本剤は緩剤、カプセル剤、注射剤、シロップ、軟膏その他の一般的医薬製剤の形態で用いられる。また本剤は他の免疫抑制剤、ホルモン剤、抗生素質、制癌剤、抗炎症剤などと併用することもできる。たとえば緩剤を製造する場合の賦形剤としては歯粉、乳糖、結晶セルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等が好ましい。

本発明の免疫抑制剤は毒性がきわめて低いといいうすぐれた性質を有し、免疫反応に起因する各種疾患の治療及び予防に有用である。

試験例1 体液性免疫能
体液性免疫能を測定するために、補体結合反

応を利用したカニンガム法(1%ムノロジイ、14巻599頁、1968年参考)で定量した。本法は血漿中の免疫グロブリン(イムノグロブリンM及びIgG)を産生する脾臍中の抗体細胞を測定する方法であつて、抗体産生細胞と補体及び抗原(羊血球)が反応して羊血球膜に拘着を与え、生じた溶血斑の数より抗体産生能を測定することができる。

一群5匹の平均体重23gのDDN系マウス(雄)に、オ1表に示すD-ローラミノ酸類各10mg/kgを筋肉内投与し、24時間後に抗原として羊血球0.2ml(濃度2.5×10⁶/ml)を腹腔内投与し、4日間観察したのちマウスを殺して脾臍を取り出し、1.50メッシュのステンレス製の金網を通して浮遊する細胞を5mlの最小イーグル培地に浮遊させて供試した。

抗体産生細胞を検出するため、上記の脾臍細胞浮遊液の20倍希釈液50μl、羊血球浮遊液50μl(濃度:1.0×10⁶/ml)及びモルモット新鮮補体液50μlをよく混合し、両面テープで2枚のスライドグラスを貼り合わせた隙間に播合

板を入れ、空気と接触する部分をワックスで封じた。このスライドを37°Cで1時間保温したのち、D-ローラミノ酸無投与群と投与群との溶血斑の数を算出して、抑制率を次式によって求めた。その結果をまとめてオ1表に示す。

$$\text{抑制率}(\%) = \frac{D-\alpha-\text{アミノ酸無投与抗体産生細胞数}}{D-\alpha-\text{アミノ酸投与抗体産生細胞数}} \times 100$$

比較薬剤としてアザチオブリンを用い、同様に処理した。オ1表の結果から各種D-ローラミノ酸のうち特にバリン、ロイシン、ヒスチジン、アスパラギン、グルタミン酸、プロリン及びイソロイシンが高い抑制効果を示した。

50mg/kgのD-ローラミノ酸を経口投与して試験した結果も40%の免疫抑制を示した。

またDDN系マウスを用い、オ1表に示すD-ローラミノ酸を腹腔内に投与し、常法により急性毒性試験を行つた結果を併せてオ1表に示す。

オーナー表

D-アミノ酸の体液性免疫抑制及び急性毒性

D-アミノ酸類	体液性免疫能		急性毒性 (LD ₅₀) (mg/kg)
	投与量 (mg/kg)	抑制率 (%)	
アラニン	10	43	5000
バリン	10	60	>6000
ロイシン	10	60	3000
イソロイシン	10	41	>6000
セリン	10	14	4000
スレオニン	10	14	>6000
アスパラギン酸	10	37	1000
アスパラギン	10	47	>6000
グルタミン酸	10	40	3000
グルタミン	10	30	>6000
メチオニン	10	6	>6000
チロシン	10	36	>6000
フェニールアラニン	10	34	>6000
ヒスチジン	10	50	5000

特開昭52-63940(3)

トリプトファン	10	28	5000
アザチオブリン (イムラン)	10	25	610
	100	51	

試験例2 細胞性免疫能

遲延型過敏症、接触アレルギー、移植免疫、ある種の感染症に対する抵抗性、腫瘍免疫又は自己免疫の発現で細胞性免疫が関与していることは周知の事実である。そこでD-ローラーアミノ酸の細胞性免疫に与える効果の判定を塩化ビクリル法(イムノロジイ1.5巻、406頁、1968年及び17巻、769頁、1969年参照)により検討した。本法は塩化ビクリルが生体の蛋白と結合して抗原となるハプテン型抗原によって発現される遲延型皮膚反応を、シックネスゲージで測定する方法である。

(1)一次感作

一群10匹の平均体重約25gのICRマウス(雄)に、D-グルタミン酸及び比較薬剤としてアザチオブリンをそれぞれ1.0mg/kg及び5.0mg/kg筋内投与し、24時間後にマウス

の腹部の毛をカミソリで2.5×1.5cmの長方形にそり落とした。次いで7%塩化ビクリルーエチルアルコール溶液1mlを4.0×2.0×2mmのカット綿に含ませて、毛をそつた部分の皮膚に塗布し、感作後7日目に皮膚反応の標準値として感作マウスの両耳の厚さをシックネスゲージで測定した。

(2)二次感作

次いで10%塩化ビクリルーオリーブ油0.1mlを1.0×5×1mmのカット綿に含ませて両耳の表皮に塗布した。対照マウスにも同様に処置を行つた。24時間後に両耳の厚さをシックネスゲージで測定した。その結果をオ2表に示す。

オ2表

D-グルタミン酸による細胞性免疫の抑制効果

薬剤 (mg/kg)	一次感作後の実測値 (×10 ⁻³ cm)	二次感作後の実測値 (×10 ⁻³ cm)
無投与 対照群	23.0±1.6	29.4±1.9
D-グルタミン酸投与群	23.4±1.3	29.3±2.6
D-グルタミン酸投与群	23.3±1.0	27.1±1.4 ^{**}
アザチオブリン投与群	23.1±1.2	27.5±1.8 ^{**}

対照群の耳の厚さより薄ければ、細胞性免疫抑制効果があると判定されるが、オ2表の結果から、一次感作後の各群の実測値に対し二次感作後の対照群の実測値は「高度に有意」という結果が得られた。従つて二次感作後の無投与対照群

特開昭52-83940(4)

とローグルタミン酸投与群及びアザチオブリン投与群とを比較することは可能である。これらの各群の二次感作後の実測値を有意差検定した結果、ローグルタミン酸の 50 mg/kg 投与群とアザチオブリンの 50 mg/kg 投与群が高圧に有意という結果が得られた。これによつてローグルタミン酸は細胞免疫の抑制効果が優れ正在ことが認められた。

実施例 1

ローグルタミン酸 100 g に澱粉 200 g を加え、全量を 300 g としてよく搅拌したのち錠剤機により錠剤とする。

実施例 2

ロイシン 2 g を等張生理食塩水 100 ml に溶解し、無菌的にアンプルに分注して注射剤とする。

出願人 科研化学株式会社

代理人 弁理士 小林正雄

昭 58.3.23 発行

特許法第17条の2の規定による補正の掲載

昭和 51 年特許願第 233 号(特開昭
52-83940 号 昭和 52 年 7 月 13 日
発行 公開特許公報 52-840 号掲載)につ
いては特許法第17条の2の規定による補正があつ
たので下記のとおり掲載する。 3(2)

Int. Cl.	識別記号	府内整理番号
A61K 31/195	ABC	6408-4C
31/405	ABC	6408-4C
31/415	ABC	6408-4C

手 続 補 正 書(自発)

昭和 57 年 12 月 23 日

特許庁長官若杉和夫殿

1. 事件の表示 特願昭 51-233 号

2. 発明の名称 バンコクヒイライ
免疫抑制剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所

氏名 カクケンカイガク
株式会社
(名前)

4. 代理人

住所 東京都渋谷区虎ノ門1丁目16番9号 双葉ビル

氏名 井園士(6404) 小林正雄

〒105 電話(591)0914-3



5. 補正命令の日付

昭和 57 年 月 日

6. 補正により増加する発明の数

7. 補正の対象 明細書

8. 補正の内容 別紙訂正書のとおり

訂 正 書(特願昭 51-233 号)

明細書中下記の訂正を行う。

1. 第 2 頁下から 8 行の「代謝産物」を「代謝産物」に改める。
2. 第 9 頁 10 行の「総に含まで」を「総に含ませて」に改める。

